

令和元年5月31日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11281

研究課題名(和文)エクソーム解析による眼内悪性リンパ腫の原因遺伝子同定

研究課題名(英文)Genetic analysis of vitreoretinal lymphoma

研究代表者

田中 理恵 (TANAKA, RIE)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：70746388

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：眼内悪性リンパ腫の86例について遺伝子変異の検討を行った。脳中枢神経系DLBCLで既知の9つの遺伝子変異について、デジタルPCRを用いて解析した。その結果、眼内悪性リンパ腫86例中、MYD88に61%、CD79Bに43%、PIM1に25%、BTG2に19%の患者で遺伝子変異を認めた。眼内悪性リンパ腫は脳中枢神経系DLBCLと同様の遺伝子異常をもち、これが原因で腫瘍化している可能性が示唆された。また、硝子体手術で採取された細胞に対して、これらの遺伝子変異を検索することが、眼内悪性リンパ腫の補助診断になる可能性が示唆された。また、遺伝子変異のタイプにより、リンパ腫の再発率に違いを認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

硝子体手術で採取された検体を用いて眼内悪性リンパ腫の診断は行うが、病理細胞診のみでの診断は難しいことが知られている。硝子体手術で採取された細胞に対して、遺伝子変異を検索することが、眼内悪性リンパ腫の補助診断になる可能性が示唆された。また、遺伝子変異のタイプにより、リンパ腫の再発率に差を認めることから、予後予測にも役立つと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Eighty-six patients diagnosed as VRL were analyzed for mutation profiles and clinical outcome due to treatments.

Mutations of 4 genes were frequently found in VRL: MYD88 (61%), CD79B (43%), PIM1 (25%), and BTG2 (19%). CD79B mutated patients had 4 year recurrence-free survival rates of 35%, as compared to 79% of non-mutated subjects ($p=0.029$). Importantly, cases with all of MYD88, CD79B, and BTG2 mutations unexceptionally resulted in relapse, even after intensive multimodality treatments.

研究分野：ぶどう膜炎

キーワード：眼内悪性リンパ腫 遺伝子解析 診断 デジタルPCR 遺伝子変異

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

眼内悪性リンパ腫は、全リンパ腫の1%程度の稀な疾患であるが、1992年から2000年の8年間で1.7倍に増加しており、近年急激に増加している。我々はぶどう膜炎の初診患者の中で眼内悪性リンパ腫が2000年以降に急激に増加し、2007-2009年の3年間ではぶどう膜炎の初診患者の2.8%を占めるまでに増加したことを報告した(Nakahara H, Ocul Immunol Inflamm. 2014 Aug 25;1-6)。眼内悪性リンパ腫には原発性と続発性があり、原発性のは眼・中枢神経系原発性リンパ腫(primary intraocular lymphoma and primary central nervous system lymphoma: PIOL and PCNSL)と呼ばれ眼内悪性リンパ腫の82%を占める。その多くがびまん性大細胞型B細胞リンパ腫(diffuse large B cell lymphoma, DLBCL)である。近年の本邦の25施設における眼内悪性リンパ腫の臨床像調査では、5年生存率61.1%と依然として生命予後不良な疾患であることが明らかとなった。

2. 研究の目的

眼内悪性リンパ腫は近年急激に増加している疾患で、眼科疾患の中で最も生命予後の悪い疾患の1つである。本研究は眼内悪性リンパ腫での原因を明らかにする目的で、遺伝子解析を行い、眼内悪性リンパ腫に特異的な新規の遺伝子変異の同定し、新しい眼内悪性リンパ腫の診断マーカーや治療標的を検索することを目的とする。同時に、本疾患の生命予後の改善を目指し、眼局所治療(メトトレキサート硝子体注射)、全身化学療法および低線量の全脳照射治療を組み合わせた独自の治療プロトコルを作成して、前向き臨床試験を行っている。眼内悪性リンパ腫の生命予後を改善する新しい治療法の確立を目指すことを目的とする。

3. 研究の方法

眼内悪性リンパ腫症例の症例を集積し、本疾患の生命予後改善を目指した新しい治療プロトコルによる前向き臨床研究を実施する。一方、遺伝子研究に同意を頂けた患者から得た硝子体液(腫瘍サンプル)と血液サンプルを用いて、眼内悪性リンパ腫の体細胞変異の解析を行う。脳播種を起こした患者に関しては、脳病変の生検サンプルについても解析し、眼内悪性リンパ腫に特異的な遺伝子変異を検索する。同定された遺伝子変異の有無と眼内悪性リンパ腫の臨床像(他臓器の悪性リンパ腫の合併、再発歴、生命予後など)との関連性を解析する。

4. 研究成果

原発性眼内悪性リンパ腫に対し、メトトレキサート硝子体注射、全脳照射、全身化学療法を組み合わせた治療を前向き研究で行い、4年無再発率74.9%、4年全生存率86.3%と良好な結果を得た(Kaburaki T, et al. Br J Haematol. 2017;179:246-255)。

また、続発性眼内悪性リンパ腫の原発巣あるいは全身への再発巣の病理組織を解析し、30例中29例(97%)でリンパ腫の組織型が予後不良なactivated B cell type (ABC type)のびまん性大細胞型リンパ腫(DLBCL)であることを見いだした(Karakawa A, et al. Br J Haematol. 2018;183:668-671)。

ABC typeのDLBCLに関しては、脳および他臓器においてMYD88におけるc.794T>CやPIM1におけるc.550C>Tなどの遺伝子変異が高率にみられることが報告されている。眼内悪性リンパ腫の86例について遺伝子変異の検討を行った。脳中枢神経系DLBCLで既知の9つの遺伝子変異(MYD88におけるc.794T>C、c.728G>A、CD79Bにおけるc.586T>A、c.586T>C、c.587A>C、c.587A>G、BTG2におけるc.133G>A、c.142G>A、PIM1におけるc.550C>T)について、デジタルPCRを用いて解析した。その結果、眼内悪性リンパ腫86例中、MYD88に61%、CD79Bに43%、PIM1に25%、BTG2に19%の患者で遺伝子変異を認めた。眼内悪性リンパ腫は脳中枢神経系DLBCLと同様の遺伝子異常をもち、これが原因で腫瘍化している可能性が示唆された。また、硝子体手術で採取された細胞に対して、これらの遺伝子変異を検索することが、眼内悪性リンパ腫の補助診断になる可能性が示唆された。また、遺伝子変異のタイプにより、リンパ腫の再発率に違いを認めた。現在、論文投稿準備中である。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計8件)

[Tanaka R](#), [Kaburaki T](#), Nakahara H, Komae K. Ocular inflammation associated with relapsing polychondritis in Japanese patients: a review of 11 patients. *Int Ophthalmol*. 2019 May 10. doi: 10.1007/s10792-019-01114-8. [Epub ahead of print]

[Tanaka R](#), [Kaburaki T](#), Ohtomo K, Takamoto M, Komae K, Numaga J, Fujino Y, Aihara M. Clinical characteristics and ocular complications of patients with scleritis in Japanese. *Jpn J Ophthalmol*. 2018 Jul;62(4):517-524. doi: 10.1007/s10384-018-0600-y.

Nakahara H, [Kaburaki T](#), [Tanaka R](#), Matsuda J, Takamoto M, Ohtomo K, Okinaga K,

Komae K, Numaga J, Fujino Y, Aihara M. Monoclonal immunoglobulin heavy chain gene rearrangement in Fuchs' uveitis. *BMC Ophthalmol.* 2018 Mar 9;18(1):74. doi: 10.1186/s12886-018-0740-3.

Karakawa A, Taoka K, Kaburaki T, Tanaka R, Shinozaki-Ushiku A, Hayashi H, Miyagi-Maeshima A, Nishimura Y, Uekusa T, Kojima Y, Fukayama M, Kurokawa M, Aihara M. Clinical features and outcomes of secondary intraocular lymphoma. *Br J Haematol.* 2018 Nov;183(4):668-671. doi: 10.1111/bjh.15005.

Kaburaki T, Taoka K, Matsuda J, Yamashita H, Matsuda I, Tsuji H, Tanaka R, Nakazaki K, Nakamura F, Kamiya K, Kurokawa M, Ohtomo K, Aihara M. Combined intravitreal methotrexate and immunochemotherapy followed by reduced-dose whole-brain radiotherapy for newly diagnosed B-cell primary intraocular lymphoma. *Br J Haematol.* 2017 Oct;179(2):246-255. doi: 10.1111/bjh.14848.

Tanaka R, Sakurai K, Kaburaki T. Scleritis Associated with SAPHO Syndrome: A Case Report. *Ocul Immunol Inflamm.* 2018;26(5):767-769. doi: 10.1080/09273948.2016.1264611.

Komatsu K, Sakai T, Kaburaki T, Tsuji H, Tsuneoka H. Atypical presentation of primary intraocular lymphoma. *BMC Ophthalmol.* 2016 Oct 3;16(1):171.

曾我 拓嗣, 稲用 和也, 戸塚 清人, 杉本 宏一郎, 本田 紘嗣, 陳 逸寧, 田中 理恵, 蕪城 俊克, 野本 洋平. 漿液性網膜剝離を主症状とした眼内悪性リンパ腫の 1 例. あたらしい眼科 (2016)33 巻 3 号 Page427-431

〔学会発表〕(計 10 件)

Rie Tanaka, Toshikatsu Kaburaki, Ayako Karakawa, Kazuki Taoka, Jyunko Matsuda, Hideki Tsuji, Atsushi Yoshida, Mitsuko Takamoto, Yujiro Fujino. Sensitivity of four diagnostic tests using vitreous samples for diagnosing intraocular lymphoma. ARVO Annual Meeting. 2018

Rie Tanaka, Toshikatsu Kaburaki, Ayako Karakawa, Kazuki Taoka, Hiroshi Murata, Muneyuki Takao, Fumiyuki Araki, Hidetoshi Kawashima, Makoto Aihara. Evaluation of four diagnostic tests using vitreous fluid for detecting intraocular lymphoma. 第 57 回日本網膜硝子体学会. 2018

田岡 和城, 唐川 綾子, 中崎 久美, 遠山 和博, 荒井 俊也, 田中 理恵, 蕪城 俊克, 相原 一, 黒川 峰夫. 再発眼内悪性リンパ腫の臨床的特徴と治療効果. 第 80 回日本血液学会学術集会. 2018

蕪城 俊克, 田中 理恵, 唐川 綾子, 田岡 和城, 松田 順子, 辻 英貴, 吉田 淳, 高本 光子, 藤野 雄次郎. 眼内悪性リンパ腫の診断基準の十分条件の検討. 第 71 回日本臨床眼科学会. 2017

蕪城 俊克, 田中 理恵, 唐川 綾子, 田岡 和城, 松田 順子, 辻 英貴, 吉田 淳, 高本 光子, 藤野 雄次郎. 眼内悪性リンパ腫診断の必要条件の検討. 第 51 回日本眼炎症学会. 2017

小林 芙美, 蕪城 俊克, 田中 理恵, 小野 久子, 藤野 雄次郎, 白濱 新多朗, 高本 光子, 沖永 貴美子, 辻 英貴, 相原 一. 眼内悪性リンパ腫における網膜血管炎の頻度. 第 121 回日本眼科学会総会. 2017

田中理恵, 蕪城俊克, 松田順子, 田岡和城, 山下英臣, 中村文彦, 松田出, 辻英貴, 黒川峰夫, 相原 一. 原発性眼内悪性リンパ腫に対する全身および局所化学療法と予防的全脳照射の併用療法. 第 70 回日本臨床眼科学会総会. 2016

Junko Matsuda, Toshikatsu Kaburaki, Rie Tanaka, Hisae, Nakahara, Mitsuko Takamoto, Kimiko Okinaga, Kazuyoshi Otomo, Keiko Komae, Makoto Aihara. Combined intravitreal methotrexate and immunochemotherapy followed by reduceddose whole-brain radiotherapy for newly diagnosed primary B-cell intraocular lymphoma. ARVO Annual Meeting. 2016

Rie Tanaka, Kazuyoshi Ootomo, Mitsuko Takamoto, Keiko Komae, Jiro Numaga, Yujiro Fujino, Makoto Aihara, Toshikatsu Kaburaki. Clinical characteristics of Japanese patients with scleritis. ARVO Annual Meeting. 2016

蕪城俊克. シンポジウム 5 眼部腫瘍診断の最前線 -微量検体から分かること- 「PCR 検査」. 第 70 回日本臨床眼科学会総会. 2016

〔図書〕(計 1 件)

吉田 淳, 蕪城 俊克. 【必修!やっておくべきぶどう膜炎の検査と読み方】 硝子体サンプルの解析結果の読み方. 眼科グラフィック. 2017.390-395

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称: Diagnostic method for vitreous lymphoma

発明者: 田岡 和城、唐川 綾子

権利者: 田岡 和城、唐川 綾子

種類: Provisional

番号: Application Number62785732

出願年: 28 Dec 2018

国内外の別: 米国

取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名: 蕪城 俊克

ローマ字氏名: Kaburaki Toshikatsu

所属研究機関名: 東京大学

部局名: 医学部附属病院

職名: 准教授

研究者番号(8桁): 00280941

研究分担者氏名: 田岡 和城

ローマ字氏名: Taoka Kazuki

所属研究機関名: 東京大学

部局名: 医学部附属病院

職名: 助教

研究者番号(8桁): 30529178

(2)研究協力者

なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。